

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die sehr frühe
Entwicklung des Herzmuskels beim Hühnerembryo

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Johannes Korporal
aus Gadderbaum

1972

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die sehr frühe

Entwicklung des Herzmuskels beim Hühnerembryo

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den medizinischen Fachbereichen

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Johannes Korporal

aus Gadderbaum

Referent: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Merker

Korreferent: Prof. Dr. med. Willy Schwarz



Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 16. Februar 1972

INHALT

Einleitung	1
Material und Methoden	6
Befunde	8
Diskussion	18
Zusammenfassung	28
Literaturverzeichnis	
Bildmaterial	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung

An der frühen Entwicklung des Herzens beteiligt sich das Mesoderm in zwei wesentlichen Entwicklungsabschnitten:

1. Aus dem visceralen Blatt des Coelomepithels sondern sich an der vorderen Darmbucht Zellen ab, die zu ventral des Vorderdarms gelegenen Strängen zusammenfließen. In ihnen treten Lichtungen auf. Es entsteht dadurch das Endothel der sogenannten paarigen Gefäßsäckchen und der ventralen Aorten (Ehman 1929, Patten 1948, Goerttler 1950, Hamburger and Hamilton 1951, Clara 1955, Goerttler 1958, Grosser 1966, Rosenquist and de Haan 1966, Orts-Llorca and Jimenez Collado 1967, de Haan 1967, Manasek 1968).
2. Teile der medialen Wand der Coelomhöhle (Splanchnopleura) verdicken sich zur sogenannten Herzplatte (myoepicardialer Mantel) (Patten 1922). Die Entwicklung des Myocards und seiner kontraktilen und erregungsleitenden Eigenschaften wird von diesen Teilen des Coelomepithels hergeleitet (Rumjantzew 1927, Patten 1948, Goerttler 1950, Hamburger and Hamilton 1951, Clara 1955, Goerttler 1958, Grosser 1966, Rosenquist and de Haan 1966).

Trotz genauer Kenntnis dieser histogenetischen Vorgänge ist es noch umstritten, ob die Entwicklung der Herzmuskulatur über ein mesenchymähnliches Stadium verläuft - analog der Entstehung der Skelettmuskulatur (Moellendorff 1929, Moellendorff 1931) - oder ob das Coelomepithel durch ständige Dickenzunahme direkt die endgültige Ausprägung erreicht (Manasek 1968). Diese Dickenzunahme im Epithelverband bedeutet die Aufrechterhaltung enger

Zellkontakte, die bereits im frühesten Coelomepithel sichtbar sind (zonulae occludentes, tight junctions) und die auch später als typisch für den Herzmuskelverband gelten. Über den frühesten Beginn der morphologisch faßbaren Differenzierungen des Coelomepithels im Bereich der Herzanlage zu kontraktile Zellen liegen relativ wenige lichtmikroskopische Befunde vor (Godlewski 1902, Schlater 1925, Goerttler 1950, Hibbs 1956). Zweifellos laufen aber vor dem mikroskopischen Sichtbarwerden kontraktile Fibrillen in den Zellen eine Fülle von Vorgängen ab, die morphologisch lichtmikroskopisch nicht zu erfassen sind. Diese biochemisch meßbaren Vorgänge stellen das Ergebnis der speziellen Aktivität des DNS-RNS-abhängigen proteinbildenden Systems der Zellen dar (Flickinger 1962, Merker 1964).

Zwischen diesen Vorgängen und dem ersten Auftreten von Myofibrillen, die bereits Bündel aus vielen Myofilamenten darstellen, besteht eine Lücke, die bislang mit morphologischen Methoden nicht zu schließen war. So werden bereits Kontraktionen von Muskelzellen beobachtet, bevor lichtmikroskopisch Myofibrillen nachweisbar sind (Moellendorff 1931, Patten and Kramer 1933, Clara 1955, Hibbs 1956). Durch die Einführung der elektronenmikroskopischen Technik in die biologische Forschung ist es möglich geworden, den Zeitpunkt der Differenzierung morphologisch früher zu erfassen.

Aufgrund der bisher erschienenen Arbeiten über die frühe Entwicklung von Muskelzellen muß angenommen werden, daß nach Aktivierung bestimmter Genabschnitte und nach

dem Entstehen und Ausschleusen besonderer RNS-Arten aus dem Kern die Zahl der freien Ribosomen im Cytoplasma deutlich zunimmt (Andersson-Cedergren 1964, Schüssler 1971). Sie ordnen sich analog den Ribosomen anderer eiweißsynthetisierender Zellen entlang von m-RNS-Fäden an zu sogenannten Polysomen (Literatur siehe Schüssler 1971). In den Myoblasten ist diese Aggregation besonders ausgeprägt und angeordnet : Die Ribosomen sind hier schraubenartig auf einer Helix aufgereiht (Huang 1967, Auber 1969, Schüssler 1971). Dieser Ribosomenverband synthetisiert wahrscheinlich in der-selben Weise die fibrillären Proteine Aktin und Myosin (Lash et al. 1957) wie in anderen eiweißsynthetisierenden Zellen andere Proteinarten. Da die Größe der Ribosomen und die der einzelnen Myofilamente zwischen 20 und 200 Å liegt, sind sie lichtmikroskopisch nicht zu sehen (Lindner 1957).

Die morphologisch faßbare Fähigkeit der Einzelzelle zur Kontraktion, d.h. der Nachweis von Myofilamenten, besagt jedoch noch nichts über die kontraktile Eigenschaften des Gewebsverbandes (le Douariens et al. 1966). Zur synchronen Kontraktion des Herzmuskelverbandes sind zusätzlich noch notwendig :

1. eine Ausrichtung der Myofilamente zu Myofibrillenbündeln mit einer Vorzugsrichtung entsprechend der Kontraktionsrichtung,
2. eine Anheftung der Myofilamente an der Zellmembran,
3. eine starke Adhäsion der Einzelzellen untereinander,
4. eine koordinierte, synchrone Erregung durch die Ausbildung besonderer Kontaktstellen, an denen die Erregung

von Zelle zu Zelle weitergeleitet wird.

Für diese Eigenschaften sind am reifen Herzmuskel durch elektronenmikroskopische Untersuchungen bereits morphologische Korrelate gefunden worden. Ihr Entstehen im zeitlichen Verlauf der Entwicklung kann deshalb elektronenmikroskopisch verfolgt werden.

ad 1: Die Ausrichtung der Filamente geht einher mit einer typischen Verschachtelung (hexagonale Anordnung) der dünnen (Aktin-) und der dicken (Myosin-) Filamente und dem Auftreten der Z-Streifen (Hibbs 1956, Ferris 1959, Fischman 1967, Staley and Benson 1968, Kelly 1969).

ad 2: Die Anheftung der so entstandenen Bündel an die Zellmembran und damit die Möglichkeit der Kraftübertragung nach außen wird vermittelt durch elektronendichte Substanzen, die zwischen Bündelende und Zellmembran liegen (Hagopian and Spiro 1970).

ad 3: Für die Adhäsion der Zellen werden umschriebene Kontaktstellen verantwortlich gemacht, die als Desmosomen (macula adhaerens) bezeichnet werden (Carstens and Allen 1967). An diesen Stellen verdickt sich die innere Lamelle der Zellmembran durch Ablagerung von elektronendichten Massen, in die auch Myofilamentbündel einstrahlen können (Cedergren and Harary 1964, Huang 1967, Muscatello et al. 1968). Die Interzellulärsubstanz, die für die Adhäsion verantwortlich gemacht wird, häuft sich hier an und wird dadurch elektronendichter (Hay 1963, Merker 1964, Kelly 1966, Manasek 1968).

ad 4 : Eine andere Kontaktform wird für die transzelluläre Erregungsleitung im Herzmuskel verantwortlich gemacht. An diesen Stellen, den sogenannten tight junctions (nexus, zonulae occludentes), fließen die äußeren Lamellen der Zellmembran zu einer einheitlichen Lamelle zusammen, wobei der Interzellularraum verschwindet (Sjöstrand et al. 1958, Cedergren and Harary 1964, Kelly 1966, Trelstad et al. 1966, Karnovsky 1967, Benedetti and Emmelot 1968). Seit den Untersuchungen von Löwenstein (1967) und den kombinierten physiologisch-elektronenmikroskopischen Arbeiten über glatte Muskelverbände und andere Gewebe von Sheridan (1966 und 1967), Merker (1969) und Rose (1971) ist an den tight junctions ein Übergreifen der Erregung von einer Muskelzelle auf eine andere nachgewiesen.

Die Möglichkeit des elektronenmikroskopischen Nachweises der kontraktile Eigenschaften einer Zelle und eines Zellverbandes durch Darstellung von Myofilamenten, deren Bündelung und Ausrichtung, ihre Befestigung an der Zellmembran und der Ausbildung verschiedener Zellkontakte versetzen uns in die Lage, die Differenzierung der Coelomepithelzellen zu Herzmyoblasten genau verfolgen zu können.

Durch eine Untersuchung dieser Vorgänge bei Hühnerembryonen sollen Grundlagen geschaffen werden für spätere Untersuchungen über die Beeinflussung der frühen Herzentwicklung (Goerttler 1958, Jaffee 1965, de Haan 1967). Darüberhinaus liegen erst wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen über diese cytologischen Differenzierungsvorgänge vor. Sie berücksichtigen häufig nur Skelettmuskeln oder erfassen den uns interessierenden frühen Zeitpunkt dieser Entwicklung nicht.

Material und Methoden

Die Hühnereier stammen von einer Farm mit weißen Leghornhühnern, deren Schlüpfungsrate sehr hoch und deren Mißbildungsrate gering sind. Dieses Eimaterial wird schon seit längerer Zeit im II. Anatomischen Institut verwendet und ist deshalb lichtmikroskopisch und teilweise auch elektronenmikroskopisch gut bekannt.

Die Eier wurden bei 37° unterschiedlich lange bebrütet. Bis zum 4. Tag erfolgte die Bebrütung ohne Rotation und ohne Feuchtigkeitszugabe. Von diesem Zeitpunkt an müssen Rotation und Feuchtigkeitsregulierung durchgeführt werden. Zum gewählten Zeitpunkt wurde über der Luftblase die Eischale mit einer rotierenden Kreissäge vorsichtig ringförmig geöffnet. Am Eigelb vorbei kann jetzt mit einer Pipette, die an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist, ein großer Teil des Eiweiß abgesaugt werden. In den entstehenden freien Raum wird die Fixierlösung direkt eingebracht. Sie besteht aus einer 2%igen Glutaraldehyd- und einer 2%igen Paraformaldehydlösung, die mit 0,1 m. Phosphatpuffer auf einen pH von 7,4 eingestellt ist. Nach einer in loco Fixierung des Keimes für 2 - 3 Stunden schließt sich das Herauspräparieren und eine erneute Fixierung mit der gleichen Lösung für eine Stunde an. Auf das Waschen mit Phosphatpuffer für etwa 10 Minuten folgt die Nachfixierung in 1%iger OsSO_4 -Lösung (0,1 m. Phosphatpuffer, pH 7,4) für eine Stunde. Diese Fixationstechnik gilt bis zum 4. Tag. Danach wird der Hühnerembryo vor der Fixation in toto entnommen. Die gewünschten Organe werden nach der Präparation einzeln im Reagenzglas fixiert.

Bis zum 4. Tag erfolgt die Einbettung nach Entwässerung in der Acetonreihe zur besseren Orientierung flach ausgebreitet in mit Mikropal gefüllten Petrischalen. Nach beendeter Polymerisation können die einzelnen Präparate herausgesägt und auf die gewünschte Stelle und Ebene zugeschnitten werden. Ab 4. Tag werden die einzelnen Organe in toto oder nach entsprechender Zerkleinerung in Gelatine kapseln eingebettet. Zur endgültigen Orientierung werden dann Semidickschnitte mit einem von Hand betriebenen Porter - Blum Mikrotom hergestellt, in 1%iger wässriger Giemsalösung mit Boraxzusatz gefärbt und lichtmikroskopisch untersucht. Jetzt kann die endgültige Zuspitzung durchgeführt werden. Die Dünnschnitte stellen wir her an LKB - Ultratomen. Die Schnitte werden routinemäßig auf sogenannten Großlochblenden aufgefangen. Die Nachfixation erfolgte mit Uranylacetat und Bleicitrat. Die Aufnahmen wurden hergestellt an Siemens - Elmeskopen I und Ia bei einer Primärvergrößerung von $1 \sim 30\,000$ (KV: 80, Blenden $200/50\,\mu$). Die Auswertung der Bilder erfolgte an $3\frac{1}{2}$ mal nachvergrößerten Papierabzügen.

Befunde

Nachdem die dichtgelagerten praemesodermalen Mesenchymzellen Kontakt untereinander aufgenommen haben, beginnen die so entstandenen Epithelhaufen Hohlräume zu bilden. Dabei werden frühzeitig "tight junctions" (zonulae occludentes) zum Lumen hin angelegt. Diese ersten Kontaktzonen zeichnen sich durch eine lokale Obliteration der Interzellularspalten aus. An diesen Stellen verschmelzen die äußeren Lamellen der Zellmembran. Die "tight junctions" sind zunächst an umschriebenen Stellen ausgebildet. Später kann aufgrund von Serienschnitten und Schnitten in verschiedener Richtung angenommen werden, daß sie bandförmig den Zellapex umziehen und so eine kontinuierliche Kontaktzone bilden. Das Epithel ordnet sich dann zu einem einschichtigen Verband aus kubisch oder zylindrisch geformten Zellen, dem Coelomepithel. Eine scharfe Abgrenzung zum Bindegewebe hin ist jedoch im Entwicklungsstadium von 48 Stunden auf weiten Strecken nicht nachweisbar. Schon lichtmikroskopisch läßt sich im Bereich der klassischen Somato- und Splanchnopleura ein ein- bis vierreihiger Epithelzellverband darstellen, von dem aus Zellen in das darunterliegende Mesoderm abtropfen. In elektronenmikroskopischen Bildern zeigt sich, daß an diesen Stellen viele Zellen, deren Kerne weit von der Coelomhöhle entfernt liegen, mit zarten Ausläufern noch das Lumen erreichen können und hier auch noch durch tight junctions verankert sind. Eine echte basale Abgrenzung gegen das umgebende Mesoderm ist also nicht vorhanden. Eine Basalmembran fehlt oder ist nur stellenweise aus-

gebildet. Wegen der geringen Schnittdicke lassen sich im elektronenmikroskopischen Bild nicht mit Sicherheit Aussagen darüber machen, ob eine Zelle, die sich zum Teil bereits im Mesenchym befindet, noch einen apicalen Kontakt zum Coelomepithel hat, oder ob sie sich bereits gelöst hat. Die Abgrenzung dieses Epithelverbandes zum Mesenchym hin wird darüberhinaus noch dadurch erschwert, daß Interzellularlücken vorhanden sind, deren Weite nach basal deutlich zunimmt.

Das mediale Coelomepithel im Entwicklungsstadium von 48 Stunden in Höhe der Herzanlage, dem späteren myocardialen Mantel, weist jedoch deutliche Unterschiede auf. Eine klare basale Gliederung ist hier vorhanden. Der Verlauf der basalen Zellmembran dieser Zellen ist relativ gradlinig, so daß bei geringer Vergrößerung die Trennung zwischen Coelomepithel und Mesenchym leicht gelingt. Die deutlich sichtbare elektronendichte Basalmembran ist etwa 300 Å dick und verläuft in einem Abstand von 300 - 400 Å annähernd parallel zur basalen Zellmembran. Auch der Verlauf der apicalen Zellmembran ist im Coelomepithel außerhalb der Herzanlage deutlich unregelmäßiger.

An vielen Stellen ist im Bereich der Herzanlage nach einer Bebrütungsdauer von 48 Stunden das Bild eines wohlgeordneten, einschichtigen, kubischen Epithels nachweisbar. Erstaunlich ist, daß bereits in diesem Entwicklungsstadium in dem einschichtigen Coelomepithel erste Myofilamente und sogar der Beginn einer Bündelung dieser kontraktilen Proteine zu beobachten sind. Da offenbar nicht alle Zellen

gleichmäßig mit der Myofilamentbildung beginnen, gelingt es, an diesem Material fast alle Phasen der Bildung des kontraktile Apperats in der Zelle zu verfolgen. Es soll deshalb der Vorgang der Myofilamentbildung im Zusammenhang besprochen werden, wie er aus einer Vielzahl von einzelnen, fast nur zweidimensionalen Modellbildern erschlossen werden kann. Auf eine zeitlich genau determinierte Sequenz im cytologischen Bereich kann deshalb verzichtet werden.

Das Kennzeichen dieser Zellen ist der Reichtum an freien Ribosomen. Zunächst überwiegen einzelne Ribosomen und Polysomen. Bald ordnen sie sich aber stellenweise schraubenförmig um eine nicht sichtbare gerade Achse. Liegt diese Helix in der Schnittebene, so ergibt sich das elektronenmikroskopische Bild einer versetzten Granulakette. Hierbei wurden bis zu $0,6 \mu$ lange Ketten beobachtet. In der Umgebung dieser geordneten Ribosomen erscheinen nun die ersten Filamente, häufig parallel oder direkt im Anschluß an die Ribosomenhelix. Bei genauer Durchmusterung der Bilder ergibt sich, daß sowohl dicke als auch dünne Filamente in diesem frühen Synthesestadium gefunden werden können. Die ersten einzelnen Filamente scheinen noch relativ regellos zu liegen. Bald jedoch tritt eine Bündelung einiger Filamente ein, bei der allerdings die Bündel noch keine gemeinsame Vorzugsrichtung erkennen lassen. In diesem frühen Stadium sind noch keine Z-Streifen darzustellen, jedoch sieht man bereits auf Querschnitten eine hexagonale Anordnung dünner um dicke Filamente. Werden nun die Bündel durch Apposition neuer Filamente

dicker, so lassen sich Z-Streifen zunehmend deutlich darstellen. Sie bestehen aus etwa $250 \text{ \AA}$ dicken elektrodichten Streifen. Eine exakte Dickenmessung ist aufgrund der unregelmäßigen Begrenzung nicht möglich. In den Z-Streifen münden darüberhinaus noch zahlreiche ungeordnete und miteinander vernetzte Filamente ein, die Verbindung haben mit den zwischen den dicken liegenden dünnen Filamenten. Diese Zone entspricht dem späteren I-Band.

Im übrigen Teil des Sarkomers laufen dicke und dünne Filamente parallel und, wie der Querschnitt zeigt, auch geordnet nebeneinander her. Eine erste Andeutung, eine Unterbrechung des Filamentverlaufs in der Sarkomermitte, der M-Streifen, ist bereits vorhanden.

In diesem frühen Zeitpunkt der Entwicklung (48 - 60 Stunden) finden sich neben den beschriebenen kontraktilem Fadenmolekülen bereits eine Anzahl von Zellorganellen, die in dieser Menge oder Ausprägung nicht im Coelomepithel der anderen Regionen vorkommen. Sie sprechen für einen sehr aktiven Stoffwechsel in diesen Zellen. Auffallend sind zahlreiche Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums, dessen Membranen außen stellenweise mit Ribosomen besetzt sind (glattes und rauhes Retikulum). Teilweise findet sich eine parallele Lagerung dieser Membransysteme.

Im Gegensatz zu den Zellen des Coelomepithels anderer Stellen entstehen im Bereich der Herzanlage zu diesem

Zeitpunkt bereits kleinere Glykogendepots. Sie sind aus etwa 300 - 500 Å großen, nach Bleikontrastierung dunkelgefärbten, unregelmäßig begrenzten Granula zusammengesetzt, die gelegentlich auch rosettenförmig angeordnet sein können. Weiter finden sich einzelne elektrondichte, homogene Fetteinschlüsse, die bis zu 1 Mikron groß werden können.

Daneben imponieren bereits wohlgeformte Mitochondrien vom Cristaetyp, die im Schnitt eine Länge bis zu 2 μ erreichen können. Eine bevorzugte Lagerung der beschriebenen Zellorganellen in bestimmten Cytoplasmabezirken ist noch nicht ausgeprägt.

Der Verlauf der Zellmembran dieser Epithelzellen ist bis auf geringe Abweichungen und kleine Fortsätze regelmäßig. Während sich zur Coelomhöhle hin die Zellmembran leicht bucklig vorwölbt, verläuft sie zur Basalmembran hin annähernd geradlinig. Die lateralen Zellmembranen dagegen können durchaus einzelne Verzahnungen aufweisen. Durch sie und durch Fortsatzbildungen können bereits zu diesem Zeitpunkt Interzellularspalten auftreten. Zum Apex hin befinden sich die schon beschriebenen "tight junctions". Vereinzelt treten auch schon die ersten kleinen Desmosomen auf. Eine deutliche Beziehung zu den im Cytoplasma sich entwickelnden Myofilamenten weisen diese Kontaktstellen noch nicht auf.

Als nächstes Stadium soll eine Bebrütungsdauer von 61 Stunden berücksichtigt werden, da in diesem Entwicklungsstadium zahlreiche Embryonen systematisch bear-

beitet werden konnten. Der histologische Gewebsaufbau hat sich hier bereits deutlich geändert. Aus dem einschichtigen geordneten Epithelverband ist ein mehrschichtiger Verband mit außerordentlich unregelmäßigen Konturen geworden. Sowohl in die Coelomhöhle als auch in das darunterliegende Bindegewebe wölben sich ganze Zellen oder mehr oder weniger große Zellfortsätze vor. Auffällig ist dabei, daß mit der Zunahme dieser Unregelmäßigkeiten im Membranverlauf deutliche, teilweise sehr große Interzellularräume auftreten. Der Verlauf der Zellmembran wird komplizierter: Es finden sich jetzt zahlreiche, teilweise sehr langgestreckte Zellfortsätze unterschiedlicher Breite. Diese Fortsätze können sich entweder nur locker berühren oder alle Formen der Verzahnung und Umschlingung zeigen. Dadurch wird eine Deutung der räumlichen Anordnung erheblich erschwert. Nach wie vor finden sich zum Coelomlumen hin an Stellen, an denen sich Membranen benachbarter Zellen zuerst berühren, tight junctions. Zusätzlich treten diese Kontaktpunkte auch im übrigen Bereich der Zellmembran auf. Eine derartige Kontaktbildung geht offenbar immer mit einer, wenn auch häufig nur angedeuteten, Verdichtung des angrenzenden Cytoplasmas einher. Darüberhinaus hat die Zahl, aber auch die Ausdehnung der Desmosomen deutlich zugenommen. An diesen Stellen ist die Verdichtung des angrenzenden Cytoplasmas besonders ausgeprägt.

Trotz des häufig unregelmäßigen Verlaufs der Zellmembran zum Mesenchym hin findet sich streckenweise eine parallel verlaufende Basalmembran. Sie ist jedoch gelegent-

lich aufgelockert, unterbrochen oder fehlt auf manchen Strecken ganz.

In den Zellen hat sich die Morphologie der Kerne, wenn man von einer Zunahme der Formunregelmäßigkeiten ab-
sieht, nicht wesentlich geändert. Der Nukleolus ist außer-
ordentlich groß, aufgelockert und kann sogar verdoppelt
sein. Die Zunahme der Zahl derjenigen Zellen in diesem
Stadium, die sich in einem der verschiedenen Mitose-
stadien befinden, fällt besonders auf. Während der Mitose
runden sich die Zellen mehr oder weniger ab und tragen
an ihrer Oberfläche nur kleine Fortsätze.

Im Cytoplasma hat die Zahl der Filamentbündel und Fila-
mente, die ein Bündel aufbauen, zugenommen, d.h. es fin-
den sich mehr und dickere Myofibrillen. Auf Querschnit-
ten ist häufig eine exakte hexagonale Anordnung der dün-
nen um ein dickes Filament zu beobachten. Der Z-Strei-
fen ist deutlich ausgeprägt, der I-Streifen mindestens an-
gedeutet. Stellenweise tritt auch der M-Streifen hervor.
Darüberhinaus ist jetzt eine beginnende Ordnung der Myo-
filamentbündel in eine Vorzugsrichtung zu beobachten.
Vereinzelt zeigen auch benachbarte Zellen eine parallele
Lagerung der Myofibrillen. Das besondere Kennzeichen
dieses Stadiums ist aber, daß immer mehr Myofilament-
bündel an die Stellen der Zellmembran heranziehen, die
die beschriebenen Desmosomen und tight junctions auf-
weisen. Hier enden sie in einer elektronendichten Sub-
stanz unter der Zellmembran, die offenbar die Veranke-
rung bewirkt. Zusätzlich kommt es hier zu einer wellen-

förmigen Verzahnung der parallelverlaufenden Membranen von Nachbarzellen. Neben der Bündelung der Myofilamente und der Ausrichtung in eine Vorzugsrichtung geht die Synthese von Einzelfilamenten an helixartig geordneten Ribosomen weiter.

Auch in diesem Stadium ist die große Zahl von freien Ribosomen, einzeln, gruppiert oder in Helixform, charakteristisch für die Herzmyoblasten. Daneben finden sich große Areale mit dem Durchmesser von mehreren Mikron, die angefüllt sind mit dichtgepackten, etwa 350 Å großen Glykogengranula. Einzelne und kleinere Gruppen von Glykogengranula finden sich auch im Bereich des übrigen Cytoplasma. Auffallend ist das häufige gemeinsame Vorkommen eines zentralen Lipidtropfens mit einem Mantel von eng gelagerten Glykogengranula. Mitunter weisen die Glykogendepots eine zentrale Vakuole auf. Andere Cytoplasmabezirke enthalten nur in geringer Zahl Ribosomen oder Glykogenpartikel.

Neben den beschriebenen Zellorganellen kommen teilweise parallelgepackte Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums und längere, oft gewunden verlaufende Hohlräume der glatten Form vor. Die länglich ovalen Mitochondrien können sehr lang werden (bis zu 3μ). Sie zeigen außerdem Knospungen und Einschnürungen. Die Zahl der Cristae und die Dichte der Matrix haben etwas zugenommen. Ein typischer Golgi-Komplex ist in den meisten Zellen in der Nähe des Kerns nachzuweisen. Vereinzelt kommen Fetteinschlüsse, kleinere Vakuolen, multivesiculated bodies, "coated vesicles" und

kleinere, uncharakteristisch geformte Vesikel vor. Die zuletzt erwähnte Vesikelform wird durch eine einfache Membran begrenzt.

Der weitere Verlauf der Differenzierung des Myocards bis zu einer Bebrütungsdauer von 96 Stunden soll nur kurz abgehandelt werden. Zu diesem Zeitpunkt ist im wesentlichen bereits der endgültige Aufbau der Herzmuskulatur erkennbar. Die Myoblasten senden zunächst in zwei entgegengesetzten Richtungen Fortsätze aus, die allmählich an Dicke zunehmen. Dadurch bekommen die Zellen eine bipolare Gestalt. In den Fortsätzen ordnen sich die Myofilamentbündel parallel zur Längsachse. In den bipolaren Zellen ist die Ausrichtung der Myofibrillen bereits weitgehend durchgeführt, jedoch kommen auch jetzt Einzelfilamente und kleinere Filamentbündel mit anderer Verlaufsrichtung vor. Gleichzeitig mit der Richtungsprägung erfolgt eine Ordnung der übrigen Zellorganellen und der Kontaktzonen. Dieses Ordnen zeigt sich besonders bei den großen Mitochondrien mit dichtgepackten Cristae. Sie befinden sich ebenso wie die Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums in den Räumen zwischen den Myofilamentbündeln. Nur an den beiden Kernpolen liegen im von Myofibrillen freien Raum die Zellorganellen noch ungeordnet. Die bipolaren Zellen stehen schließlich nur noch an den Enden in Kontakt mit den Nachbarzellen. Diese Kontaktzonen zeigen Verzahnungen und treppenartige Abstufungen. Hier kommen in größerer Zahl tight junctions und Desmosomen vor. Die Myofibrillenbündel strahlen in ihre Verdichtungszone ein. An den lateralen Zellmembra-

nen bildet sich nach einer Bebrütungsdauer von 61 Stunden erneut eine Basalmembran aus, die vorher an der Grenze zum Mesenchym hin lag und während der Proliferation der Herzanlage sich auflöste.

Die lichtmikroskopisch bekannten Verzweigungen der Myofibrillen sind aufgrund der geringen Ausdehnung und Dicke der Schnitte sowie des meist ungünstigen Schnittwinkels oft nicht richtig zu beurteilen, obwohl sie sich in dieser Zeit bereits entwickeln.

Diskussion

Das höhere Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops und die besseren Präparationstechniken erlauben zu Problem Stellung zu nehmen, die bisher nur schlecht morphologisch nachprüfbar und deshalb umstritten waren. Eine der klassischen Fragen der frühen Herzentwicklung betrifft die Adhäsionsverhältnisse während der Myocardbildung. Es besteht kein Zweifel, daß bei den Entwicklungsvorgängen, die vom Myotom des Somiten und von der Somatopleura ausgehen, aus einem epithelialen Verband Zellen freier werden und über ein mesenchymales, d.h. ein Stadium mit isolierten Zellen, zu kontraktile Zellen umgewandelt werden (Zechel 1924, Glücksmann 1934). Umstritten ist dagegen der Prozeß der Myocardentwicklung. Ein mesenchymales Stadium ist lichtmikroskopisch hier nicht sicher zu erfassen. Außerdem zeigt auch der fertig entwickelte Herzmuskel im Gegensatz zum Skelettmuskel epithelähnliche Kontaktverhältnisse. Es ist also durchaus möglich, daß ein mesenchymales Stadium nicht durchlaufen wird, wie es manche Autoren behaupten (Manasek 1968). Die Schwierigkeiten, lichtmikroskopisch diese Vorgänge zu beurteilen, werden verständlich, wenn man die im Elektronenmikroskop deutlich sichtbaren Interzellularräume berücksichtigt. Ohne Darstellung der Kontaktverhältnisse, d.h. der tight junctions und Desmosomen, kann bei diesem Bild eine Entscheidung nicht getroffen werden. Unsere elektronenmikroskopischen Befunde sprechen für eine epitheloide Entwicklung des Myocard ohne Durchlaufen eines mesenchymalen Stadiums.

Während der frühen Entwicklung konnten basalmembran-ähnliche Strukturen als Grenze zum umgebenden Bindegewebe deutlich nachgewiesen werden (Auber 1969). An keiner Stelle war es schwierig, den ein- oder mehrschichtigen Myocardschlauch zum Bindegewebe hin abzugrenzen. Darüber hinaus entwickeln sich bereits im einschichtigen Stadium Kontaktverhältnisse, die für epitheliale und nicht für mesenchymale Verbände typisch sind (Literatur siehe McNutt and Weinstein 1970). Schon hier lassen sich primitive Desmosomen, tight junctions und Zellverzahnungen deutlich darstellen (Treistad et al. 1966, Manasek 1968). Aus diesen Befunden muß deshalb geschlossen werden, daß offenbar wegen der notwendigen Kontaktverhältnisse (transzelluläre Erregungsleitung und Adhäsion) aus einem epithelialen Mesodermverband direkt ein quergestreifter Muskelverband mit epithelialen Kontaktverhältnissen entsteht (Manasek 1968 und 1969).

In der sich allmählich verdickenden epitheloiden Zellschicht gehen Zellteilungen im Verband vor sich. Tochterzellen werden sofort wieder in den Verband eingebaut. Da wir aber bereits sehr früh Zeichen der Zelldifferenzierung darstellen konnten (Auftreten von Myofilamenten, Myofibrillenbündeln sowie epithelialen Kontaktverhältnissen), müssen auch Teilungen in den sich differenzierenden Zellen ablaufen. Hierbei ist interessant und noch nicht in allen Einzelheiten erarbeitet, wie sich die Zellorganellen und die Zellkontakte während der Teilung verhalten. Obwohl sich die Zelle abrundet und ihre Fortsätze einzieht, bleiben die Kontakte erhalten. Die Zellorganellen ordnen sich peripher

an und werden offenbar annähernd gleichmäßig auf die beiden Tochterzellen verteilt. Eine Zellteilung in Myoblasten ist also möglich und der Zusammenhang des Zellverbandes besteht auch während der Mitose durch Erhaltenbleiben der Kontakte (Manasek 1967).

Neben der großen Zahl von freien Ribosomen, Glykogeneinschlüssen, Myofilamenten und Mitochondrien findet sich auch ein gut ausgeprägtes, membranbegrenztes Hohlraumsystem mit Ribosomenbesatz, das sogenannte raue endoplasmatische Retikulum, in den embryonalen Herzmuskelzellen. Bei dreidimensionaler Rekonstruktion der elektronenmikroskopischen Bilder muß angenommen werden, daß diese Hohlräume die Form unterschiedlich flacher Säcke haben, sich aufspalten und anastomosieren können (Merker 1971). Vergleichende biochemisch-elektronenmikroskopische Untersuchungen an zahlreichen Zell- und Gewebsarten haben zu der Auffassung geführt, daß an diesen Membranen Eiweiß synthetisiert wird, das für den Export (Sekretion) bestimmt ist (Birbeck and Mercer 1963, Merker 1964). Klassische Beispiele dafür sind: Pankreas, Parotis, Leber und Plasmazellen. Von dieser Regel gibt es jedoch Ausnahmen. Ein Beispiel bieten die hier untersuchten Herzmuskelzellen. In Analogie zu den Untersuchungen an anderen Zellen muß angenommen werden, daß das raue endoplasmatische Retikulum Proteine für den Aufbau glatter Membranen des endoplasmatischen Retikulums und der Zellmembran bildet (Remmer und Merker 1963). Glattes endoplasmatisches Retikulum und Zellmembranen werden bei der Differenzierung der Herzmuskelzelle in größeren Men-

gen benötigt. Die voll ausdifferenzierte Zelle zeichnet sich durch ein stark entwickeltes glattes endoplasmatisches Retikulum aus, das hier die Myofibrillen umhüllend als sarkoplasmatisches Retikulum oder longitudinales System bezeichnet wird (Dessouky and Hibbs 1965, Forssmann and Girardier 1970). Aber auch die Oberfläche der Zelle nimmt während der Reifung erheblich zu. Nicht nur die Streckung und Verlängerung der Zelle selbst benötigt große Zellmembranmengen, sondern auch die Verzahnungen im Gebiet der späteren Glanzstreifen und die tiefen Einstülpungen in Höhe der Z-Streifen, die als transversales System bezeichnet werden (Allbrook 1962, Nelson and Benson 1963, Dessouky and Hibbs 1965, Wolff 1967, Ishikawa 1968, Forssmann and Girardier 1970). Wir wollen deshalb das gut ausgeprägte rauhe endoplasmatische Retikulum in den Herzmyoblasten mit der Vergrößerung der Oberfläche und der Bildung des sarkoplasmatischen Retikulums in Zusammenhang bringen.

Das klassische Beispiel für die Entstehung von glatten Membranen aus rauhem endoplasmatischem Retikulum stellt die Leberzelle während der Enzyminduktion dar. Hier werden zunächst Aminosäuren nach der Induktion ausschließlich in das rauhe endoplasmatische Retikulum eingebaut. Elektronenmikroskopisch läßt sich in den folgenden Stunden das Auswachsen von glatten Membranen aus diesem rauhen endoplasmatischen Retikulum beobachten. Am Ende der Entwicklung enthalten die glatten Membranen den größten Teil der markierten Aminosäuren (Remmer and Merker 1965). Ähnlich exakte Untersuchungen an der Zellmembran liegen leider noch nicht vor. Hier sind wir auf Analogieschlüsse

und die Deutung morphologischer Bilder angewiesen.

Daneben besteht aber noch die Möglichkeit für eine andere Funktion des rauen endoplasmatischen Retikulums in den Herzmyoblasten. Offenbar beteiligen sich viele Zellarten, die durch eine Basalmembran vom Mesenchym abgegrenzt werden, selbst an der Synthese dieser bindegewebigen Verdichtungszone (Trelstad 1971). Da sie reich an Proteinen und Glykoproteiden ist, könnte das rauhe endoplasmatische Retikulum an ihrer Synthese mitbeteiligt sein (von Bruchhausen und Merker 1965 und 1967, Vollrath 1968).

Zur Funktion des Golgi-Apparats muß nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen angenommen werden, daß die Aufgabe dieser Zellorganellen unter anderem darin besteht, Membranen vorzubereiten, die im rauen endoplasmatischen Retikulum synthetisiert werden. Diese Membranen tropfen in Form von vesikulären Grundbausteinen von den Enden der Golgi-Hohlräume ab und können jetzt in Form solcher vorgefertigter Einheiten in die Zellmembran oder in das Membransystem des Cytoplasma eingebaut werden (Wolff 1963).

Ein überraschendes Ergebnis bei der Untersuchung der Herzentwicklung des Hühnchens war für uns das Auftreten von filamentären Strukturen (kontraktilen Proteinen) in sehr frühen Stadien. Bereits in den einschichtigen Blättern des Coelomepithels, 61 Stunden nach Bebrütungsbeginn, sind nicht nur solche Eiweißfäden in größerer Zahl darzustellen, sondern es lassen sich auch Bündelungen,

Ausrichtungen, Anheftungen an die Zellmembran und erste Z - Streifen nachweisen. Nach heutigem Stand biochemischen Wissens und in Analogie zu anderen Proteinsynthesevorgängen muß angenommen werden, daß zahlreiche andere Vorgänge ablaufen müssen, bevor elektronenmikroskopisch kontraktile Proteine nachgewiesen werden können: Hier sind die Aktivierung bestimmter Genabschnitte, Synthese verschiedener Ribonukleinsäuren, Ausschleusen aus dem Kern, Aufbau der Ribosomen, Aggregation zu Polysomen und endlich die Proteinsynthese zu nennen (Neubert 1966). Das bedeutet, daß der Beginn der Differenzierung (Aktivierung und Inaktivierung bestimmter Genabschnitte) bei der Entwicklung der Herzmuskulatur aus dem Coelomepithel außerordentlich früh vor sich geht.

Die morphologische Erfassung der Synthese kontraktile Proteine ist bereits in verschiedenen Arbeiten untersucht worden. Neben Theorien, die sich biochemisch und morphologisch nicht halten ließen und deshalb hier nicht erwähnt werden sollen, weisen neuere Arbeiten auf eine Beteiligung der freien Ribosomen an diesen Vorgängen hin (Hay 1963, Cedergren and Harary 1964, Schüssler 1971). Auch in unseren elektronenmikroskopischen Bildern kommen neben dem Reichtum an freien Ribosomen in den Herzmyoblasten eine enge räumliche Beziehung zwischen den freien Ribosomen und den Filamenten zum Ausdruck. Die Ribosomen sind offenbar während der Synthese dieser Proteinketten vorwiegend zu Polysomen aggregiert (Andersson-Cedergren and Karlsson 1967), die häufig sogar in Form helixartiger Ketten angeordnet sein können (Larson et al. 1969, Hagopian and Spiro

1970). Damit entspricht dieses Bild den Befunden in anderen Zellen mit einer hohen Proteinsyntheserate (Birbeck and Mercer 1961, Neubert et al. 1970).

Normalerweise liegen die Ribosomen (Polysomen) in Form von Gruppen, Spiralen und Kreisen vor. Auch hier in den Myoblasten finden sich Polysomen, die aber offenbar spiralig aufgereiht liegen (Muscatello et al. 1968, Larson et al. 1969). Sie zeigen deshalb in Dünnschnitten das Bild einer alternierenden Anordnung. Dieser Befund deckt sich mit den Vorstellungen von Andersson-Cedergren und Karlsson (1967). Sie konnten darüberhinaus nachweisen, daß der entstehende Proteinfaden sich in der Mitte der Spirale entwickelt und nach außen abgeschoben wird.

Diese Entstehungsweise gilt für beide Filamentarten, Aktin und Myosin. Es bestehen aber Unstimmigkeiten über den zeitlichen Ablauf dieser Vorgänge. Einige Autoren sprechen sich für ein gleichzeitiges Entstehen von Aktin und Myosin aus (Hay 1963, Huang 1967, Manasek 1968), viele andere aber jedoch beobachten eine zeitlich getrennte Bildung (Allen and Pepe 1965, Larson et al. 1969). Unsere elektronenmikroskopischen Bilder zeigen in den sehr frühen Stadien bereits beide Filamentarten, was für eine gleichzeitige Entstehung spricht.

Das Entstehen der Myofilamente auf einem anderen Weg, z.B. aus amorpher Grundsubstanz (Pfuhl 1937, Lindner 1960, Manasek 1968), ist nicht wahrscheinlich, stellen doch die Myofilamente Polypeptidketten mit einer äußerst genau eingehaltenen Aminosäuresequenz dar. Die enge räumliche Beziehung

zwischen Ribosomen, Polysomen und den entstehenden Myofilamenten, verteilt über das gesamte Cytoplasma, und das Fehlen der in anderen Arbeiten als Precursor - Substanz (Firket 1967, Manasek 1968) beschriebenen elektronendichten Partikel, lassen uns von diesen Vorstellungen Abstand nehmen.

Die zentrale Rolle der Ribosomen bei der Synthese der Filamente bringt auch die Anreicherung von Glykogen in Herzmyoblasten dem Verständnis näher. Das Glykogen ist, wie aus den Untersuchungen anderer, glykogenreicher Gewebe bekannt ist, neben seiner Rolle als Energielieferant bedeutungsvoll beim Aufbau der Kohlehydratanteile der Kernsäuren (Gelli 1969, Manasek 1969). Der Glykogenreichtum der Herzmyoblasten ist unter diesem Aspekt durchaus verständlich.

Nach der Synthese der Myofilamente ist die Differenzierung der Myoblasten noch nicht abgeschlossen. Dieser Vorgang stellt vielmehr die Voraussetzung und den Beginn anderer Differenzierungsschritte dar, deren wichtigste die Ausrichtung der Myofilamente und die Ausbildung der Glanzstreifen sind. Unabhängig von den beiden diskutierten Kontraktionsmechanismen (Faltung und Gleiten) ist nur dann eine effektive Verkürzung möglich, wenn die Myofilamente ausgerichtet in der Zelle verlaufen.

Die frühe Synthese von Myofilamenten in dem noch einschichtigen Coelomepithel des prospektiven Myocards war bereits ein überraschender Befund. Ebenso interessant ist aber auch die schnelle topographische Einordnung der

entstandenen Myofilamente in kleinere Bündel, die sofort durch Z - Streifen stabilisiert werden. Darüberhinaus tritt auch eine Ausrichtung in bestimmte Hauptrichtungen ein, die durch ein annähernd paralleles Lagern der Filamentbündel imponiert (Dessouky and Hibbs 1965, Kelly 1969, Hagopian and Spiro 1970). Zellen dieses Entwicklungsstadiums sind zu Kontraktionen befähigt (Rumery and Blandau 1964). Um eine gerichtete oder synchrone Kontraktion durchführen zu können, ist dazu noch eine Koordination der Zellen notwendig. Sie kann nach morphologischen Vorstellungen auf zwei Wegen erreicht werden: entweder durch Innervation jeder Muskelzelle oder durch transzelluläre Erregung. Nervenendigungen konnten in allen bisher untersuchten Hühnerembryonen dieser Stadien im Bereich der Herzanlage und in deren Umgebung nicht gefunden werden. Die Verhältnisse im erwachsenen Herzen sprechen auch gegen diese Möglichkeit. Hier finden wir eine transzelluläre Erregungsleitung, d.h. ein Überspringen der Erregung an bestimmten Kontaktstellen (Sheridan 1967). Die Kontaktstellen (Glanzstreifen) sind treppenförmig angeordnet, wobei Membranabschnitte, die senkrecht zur Zugrichtung liegen, Desmosomen tragen und Abschnitte, die parallel zur Zugrichtung verlaufen, tight junctions aufweisen (Sjöstrand et.al. 1958, Cedergren and Harary 1964). In den von uns untersuchten frühen Stadien sind Glanzstreifen noch nicht zu finden. jedoch ist eine oberflächliche Verzahnung bereits vorhanden, die sowohl Desmosomen als auch tight junctions aufweist. Der makroskopisch beobachtete sehr frühe Beginn der Kontraktionen des Herzmuskels beim Hühnchen findet

hier sein morphologisches Substrat (Barry 1948, Hibbs 1956).

Weil sich das Myocard als deutlich abgegrenzte Schicht aus dem Coelomepithel entwickelt, muß die Blut- und Nervenversorgung sekundär erfolgen. In anderen Muskelverbänden, die über ein mesenchymales Stadium verlaufen, ordnen sich die isolierten, prospektiven Muskelzellen um bereits vorhandene oder sich entwickelnde Blutgefäße und Nervenfasern an. Wegen der dichten Lagerung der Myocardzellen und der anfänglich noch vorhandenen Trennung vom Bindegewebe durch eine Basalmembran, ist eine ähnliche Durchflechtung von Muskelzellen, Blutgefäßen und Nerven hier nicht möglich. In dem von uns untersuchten Zeitraum, d. h. bis zu einem mehrschichtigen Aufbau, können im Myocard keine Gefäße und Nerven dargestellt werden. Dieser Vorgang müßte eine spätere kritische Phase in der Herzentwicklung darstellen. Er scheint bei der Deutung von Herzmißbildungen bisher nicht ausreichend berücksichtigt worden zu sein. Ein vergleichbarer Modellfall des sekundären Einwachsens von Nerven und Gefäßen liegt im Gehirn vor. Auch hier entwickelt sich aus dem soliden epithelialen Neuralrohr zunächst ein Gebilde mit beträchtlicher Wanddicke, bevor Blutgefäße und periphere Nervenfasern eindringen (Wechsler 1965, Peterson 1968, Peterson 1968, Breipohl 1968, Peterson 1969, Baer 1971).

Zusammenfassung

Die Entwicklung des Myocards aus dem Coelomepithel wurde an Hühnerembryonen bei einer Bebrütungsdauer von 48, 61 und 96 Stunden untersucht. Im Gegensatz zu anderen Bezirken weist das einschichtige Coelomepithel in der Höhe der Herzanlage eine klare Abgrenzung zum Mesenchym und eine deutliche Basalmembran auf. Zellmembranen können hier lateral geringgradig verzahnt sein und weisen zum Zellapex hin tight junctions und an anderen Stellen einige Desmosomen auf. Auffallend sind bereits in diesem Stadium der Nachweis von dünnen und dicken Myofilamenten und deren Bündelung zu Myofibrillen. Mit zunehmender Bündelung lassen sich auch Z - Streifen und Andeutungen des I - und M - Bandes darstellen. Die Myofibrillen haben noch keine Vorzugsrichtung und selten Beziehung zu Zellkontakten. Daneben sind typische Organellen proteinsynthetisierender Zellen zu sehen, wie Ribosomen, Polysomen, deren helicale Anordnung um einen Zentralfaden und die Aufreihung von Ribosomen entlang von Membransystemen, dem rauhen endoplasmatischen Retikulum. Glattes und rauhes endoplasmatisches Retikulum finden sich teilweise in paralleler Lagerung.

Das Entwicklungsstadium von 61 Stunden wird gekennzeichnet durch einen mehrschichtigen, unregelmäßigen Zellverband mit Interzellularspalten, langen Zellausläufern und vielen speziellen Zellkontakten. Eine Basalmembran ist stellenweise vorhanden. Tight junctions treten nun auch in anderen

Bereichen der Zellmembran auf, und die Zahl der Desmosomen hat zugenommen. Diesen Strukturen wird eine Bedeutung beim mechanischen Kontakt und bei der synchronen Erregung der Herzmuskelzellen zugeschrieben. Die beschriebenen Kontaktverhältnisse sprechen dafür, daß während der Entwicklung der Herzmuskulatur aus dem Coelomepithel ein mesenchymales Stadium nicht durchlaufen wird. Im Cytoplasma hat die Myofibrillenformation zugenommen. Vereinzelt findet bereits eine Ausrichtung der Fibrillen und eine parallele Lagerung in verschiedenen Zellen statt. Myofilamentbündel werden offensichtlich an der Zellmembran in Höhe der Desmosomen und tight junctions angeheftet. Diese Vorgänge werden als Voraussetzung für eine Übertragung der Kontraktion nach außen und eine synchrone Kontraktion des Gewebeverbandes diskutiert. Der außerordentliche Glykogenreichtum der Herzmyoblasten wird neben der Deckung des Energiebedarfs mit der gesteigerten Kernaäuresynthese in Verbindung gebracht. Mitochondrien können sehr lang werden und Knospungen oder Einschnürungen enthalten. In Nähe des Zellkerns ist ein Golgikomplex darstellbar.

Bis zum Stadium von 96 Stunden finden die Herzmuskelzellen ihre bleibende bipolare Gestalt. Es erfolgt eine endgültige Ausrichtung der Zellorganellen. Die Zellen stehen nur noch an den schmalen Enden durch tight junctions und Desmosomen in Kontakt miteinander. An lateralen Zellmembranen bildet sich eine Basalmembran.

L I T E R A T U R

- Afzelius, B.: Anatomy of the cell. Chicago: Univ. of Chicago Pr. 1967.
- Allbrook, D.: An electron microscopic Study of regenerating skeletal muscle. In: J. Anat. 96 (1962) S. 137 - 152.
- Allen, R. E., F. A. Pepe: Ultrastructure of developing muscle cells in the chick embryo. In: Am. J. Anat. 116 (1965) S. 115 - 148.
- Andersson-Cedergren, E., U. Karlsson: Polyribosomal Organization in intact intrafusal muscle fibers. In: J. Ultrastr. Res. 19 (1967) S. 409 - 416.
- Auber, J.: La Myofibrillogenese du muscle strie. In: J. Microsc. 8 (1969) S. 267 - 390.
- Baer, T.: Kapillaren- und Basalmembranbildung während der embryonalen Entwicklung von Ratten. Berlin, F.U., Med.Diss. 1971.
- Barry, A.: The functional Significance of the cardiac jelly in the tubular heart of the chick embryo. In: Anat. Rec. 102 (1948) S. 289 - 298.
- Benedetti, E., P. Emmelot: Hexagonal Array of subunits in tight junctions separated from isolated rat liver plasma membranes. In: J. Cell. Biol. 38 (1968) S. 15 - 24.
- Birbeck, M., E. H. Mercer: Cytology of cells which synthesize protein. In: Nat. 189 (1961) S. 558.
- Breipohl, W.: Entwicklung und gliöse Beziehungen der Basalmembran der Kapillaren des Mäusegehirns. In: Acta Anat. 69 (1968) S. 393 - 408.
- Bruchhausen, F. v., H. J. Merker: Gewinnung und morphologische Charakterisierung einer Basalmembranfraktion aus der Nierenrinde der Ratte. In: Naunyn. Schm. Arch. 251 (1965) S. 1 - 12.

- Bruchhausen, F. v., H. J. Merker: Morphologischer und chemischer Aufbau isolierter Basalmembranen aus der Nierenrinde der Ratte. In: Histochem. 8 (1967) S. 90 - 108.
- Carstens, L. A., J. R. Allen: Fine structural Observations on embryonic myocardial binding sites. In: J. Cell. Biol. 35 (1967) 22 A.
- Cedergren, B., I. Harary: In vitro studies on single beating rat heart cells. VI: Electron microscopic Studies of single cells. In: J. Ultrastr. Res. 11 (1964) S. 428 - 442.
- Cedergren, B., I. Harary: In vitro studies on single beating rat heart cells. VII: Ultrastructure of the beating cell layer. In: J. Ultrastr. Res. 11 (1964) S. 442 - 454.
- Clara, M.: Entwicklungsgeschichte des Menschen. 5. Aufl. Leipzig: Thieme 1955.
- Dessouky, A. D., R. G. Hibbs: An Electron microscope study of the development of the somatic muscle of the chick embryo. In: Am. J. Anat. 116 (1965) S. 523 - 566.
- Ekman, G.: Experimentelle Untersuchung über die früheste Herzentwicklung bei rana fusca. In: W. Roux' Arch. 116 (1929) S. 327 - 347.
- Fischman, D. A.: An Electron microscope study of myofibril formation in embryonic chick skeletal muscle. In: J. Cell. Biol. 32 (1967) S. 557 - 575.
- Ferris, W.: Electron microscope observations of the histogenesis of striated muscle. In: Anat. Rec. 133 (1959) S. 275.
- Firket, H.: Ultrastructural Aspects of myofibrils formation in cultured skeletal muscle. In: Z. Zellforsch. 78 (1967) S. 313 - 327.

- Flickinger, R. A.: Sequential Gene-action in protein synthesis and cellular differentiation. In: Internat. Rev. Cytol. 13 (1962) S. 75 - 98.
- Forssmann, W. G., L. Girardier: A Study of the T-system in rat heart. In: J. Cell. Biol. 44 (1970) S. 1 - 19.
- Galey, F. R.: Local Contraction patterns of striated muscle. In: J. Ultrastr. Res. 11 (1964) S. 389 - 400.
- Gelli, G. M.: Glycogen content in the foetal heart in relation to heart activity. In: Acta Obstetr. Gyn. Scand. 48 (1970) Suppl.
- Glücksman, A.: Über die Entwicklung der quergestreiften Muskulatur und ihre funktionellen Beziehungen zum Skelett in der Onto- und Phylogenie der Wirbeltiere. In: Z. Anat. Entw.-gesch. 103 (1934) S. 303 - 370.
- Godlewski, E.: Die Entwicklung des Skelett- und Herzmuskelgewebes der Säugethiere. In: Arch. Mikrosk. Anat. 60 (1902) S. 111 - 156.
- Goerttler, K.: Normale und pathologische Entwicklung des menschlichen Herzens. Stuttgart: Thieme 1958.
- Goerttler, K.: Entwicklungsgeschichte des Menschen. Berlin: Springer 1950.
- Goodman, H. M., A. Rich: Mechanism of polyribosome action during protein synthesis. In: Nat. 199 (1963) S. 318 - 322.
- Grosser, O., R. Ortman: Grundriss der Entwicklungsgeschichte des Menschen. 6. Aufl. Berlin: Springer 1966.
- Haan, R. L. de: Development of form in the embryonic heart. In: Circulation 35 (1967) S. 821 - 833.
- Hagopian, M., D. Spiro: Derivation of the Z-line in the embryonic chick heart. In: J. Cell. Biol. 44 (1970) S. 683 - 687.

- Hamburger, V., H. Hamilton: A Series of normal stages in the development of the chick embryo. In: J. Morph. 58 (1951) S. 49 - 92.
- Hammar, J. A.: Konstitutionsanatomische Studien über die Neurotisierung des Menschenembryos. In: JB Morph. Mikrosk. Anat. 41 (1937) S. 469 - 497.
- Hay, E. D.: The fine Structure of differentiating muscle in the salamander tail. In: Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 59 (1963) S. 6 - 34.
- Hibbs, R. G.: Electron microscopy of developing cardiac muscle in chick embryos. In: Am. J. Anat. 99 (1956) S. 17 - 51.
- Huang, C. Y.: Electron microscopic Study of the development of heart muscle of the frog *Rana pipiens*. In: J. Ultrastr. Res. 20 (1967) S. 211 - 226.
- Jaffee, O. C.: Hemodynamic Factors in the development of the chick embryo heart. In: Anat. Rec. 151 (1955) S. 69 - 76.
- Ishikawa, H.: Formation of elaborate networks of T-system tubules in cultured skeletal muscle with special reference to the T-system formation. In: J. Cell. Biol. 38 (1968) S. 51 - 66.
- Karnovsky, M. J.: The ultrastructural Basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. In: J. Cell. Biol. 35 (1967) S. 213 - 236.
- Kelly, D. E.: Fine Structure of desmosomes, hemidesmosomes and an adepidermal globular layer in developing newt epidermis. In: J. Cell. Biol. 28 (1966) S. 51 - 72.
- Kelly, D. E.: Myofibrillogenesis and Z-band differentiation. In: Anat. Rec. 163 (1969) S. 403 - 426.
- Larson, P. F., P. Hudgson, J. N. Walton: Morphological Relationship of polyribosomes and myosin filaments in developing and regenerating skeletal muscle. In: Nat. 222 (1969) S. 1168 - 1169.

- Lash, J. W., H. Holtzer, H. Swift: Regeneration of mature skeletal muscle. In: Anat. Rec. 128 (1957) S. 679 - 697.
- Le Douarin, G. L., G. Obrecht, E. Coraboeuf: Determinations regionales dans l'aire cardiaque présumptive mises en évidence chez l'embryon de poulet par la méthode microelectrophysiologique. In: J. Embryol. Exptl. Morphol. 15 (1966) S. 153 - 167.
- Lindner, E.: Myofibrils in the early development of the chick embryo heart as observed with the electron microscope. In: Anat. Rec. 136 (1960) S. 234 - 235.
- Lindner, E.: Submikroskopische Untersuchungen über die Herzentwicklung beim Hühnchen. In: Verh. Anat. Ges. 54. Jena: Fischer 1957.
- Loewenstein, W.: The Genesis of cellular communication. In: Develop. Biol. 15 (1967) S. 503 - 520.
- Manasek, F. J.: Mitosis in the developing cardiac muscle. In: J. Cell. Biol. 37 (1967) S. 191 - 196.
- Manasek, F. J.: Embryonic Development of the heart. I: A light and electron microscopic Study of myocardial development in the early chick embryo. In: J. Morph. 125 (1968) S. 329 - 366.
- Manasek, F. J.: Myocardial Cell death in the embryonic chick ventricle. In: J. Embryol. Exptl. Morph. 21 (1969) S. 271 - 284.
- Merker, H. J.: Die Veränderungen der Rattenvagina im Zyklus und unter experimentellen Bedingungen. Habilitationsschrift Berlin, F. U. v. 1964.
- Merker, H. J.: Synthese, Wirkung und Abbau der Gestagene im elektronenmikroskopischen Bild. Aus: HB der experimentellen Pharmakologie. Berlin: Springer 1969. (Sonderdr.)
- Merker, H. J.: Beitr. in: Einführung in die Elektronenmikroskopie. Stuttgart: Thieme (in Vorb.)

- Moellendorff, W. v.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Bd 1: Lebendige Masse. T. 2: Wachstum und Vermehrung der Lebendigen Masse. Berlin: Springer 1929.
- Moellendorff, W. v.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Berlin: Springer 1931.
- Muscatello, U., I. Pasquali-Ronchetti, A. Barasa: An Electron microscope study of myoblasts from chick embryo heart cultured in vitro. In: J. Ultrastr. Res. 23 (1968) S. 44 - 59.
- Nelson, D. A., E. S. Benson: On the ultrastructural Constitutions of the transverse tubular system of rabbit and human myocardial cells. In: J. Cell. Biol. 16 (1963) S. 297 - 313.
- Neubert, D.: Beeinflussung des Nukleinsäure- und Protein-stoffwechsels durch Pharmaka. In: Internist 7 (1966) S. 435 - 454.
- Neubert, D., H. J. Merker, E. Köhler, R. Krowke, H. J. Barrach: Biochemical Aspects of teratology. In: Advances in the Biosc. 6 (1970) S. 576 - 622.
- Orts Llorca, F., J. Jimenez Collado: Determination of heart polarity in the chicken embryo. In: W. Roux' Arch. 158 (1967) S. 147 - 163.
- Patten, B. M.: The Formation of the cardiac loop in the chick. In: Am. J. Anat. 30 (1922) S. 373 - 397.
- Patten, B. M., T. C. Kramer: The Initiation of contraction in the embryonic chick heart. In: Am. J. Anat. 53 (1933) S. 349 - 375.
- Patten, B. M.: The early Embryology of the chick. 3. ed. Philadelphia: Blakiston 1948.
- Peterson, R. G.: Light and electron microscopic Observations of vascularization of the brain of the chick embryo. In: Anat. Rec. 160 (1968) S. 409.
- Peterson, R. G.: The fine Structure of vascular-neural relations in the brain of the developing chick. In: J. Cell. Biol. 39 (1968) S. 105A.

- Peterson, R. G.: Vascular Permeability to horseradish peroxidase in the developing chick brain. In: Anat. Rec. 163 (1969) S. 341.
- Pfuhl, W.: Die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern nach wachsartiger Degeneration. In: JB Morph. Mikrosk. Anat. 41 (1937) S. 569 - 616.
- Remmer, H., H. J. Merker: Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Retikulum in der Leberzelle während der Behandlung mit Phenobarbital. In: Klin. Woch. schr. 41 (1963) S. 276 - 283.
- Remmer, H., H. J. Merker: Effect of drugs on the formation of smooth endoplasmic reticulum and drug-metabolizing enzymes. In: Ann. NY Acad. Sc. 123 (1965) S. 79 - 97.
- Remmer, H.: Die Elimination von Arzneimitteln durch enzymatischen Abbau in der Leber. In: Internist 7 (1966) S. 413 - 418.
- Rose, B.: Intercellular Communication and some structural aspects of membrane junctions in a simple cell system. In: J. Membr. Biol. 5 (1971) S. 1 - 17.
- Rosenquist, G. C., R. L. De Haan: Migration of precardiac cells in the chick embryo. In: Contrib. Embryol. 38 (1966) S. 111 - 121.
- Rumery, R. E., R. J. Blandau: The Cytodifferentiation of myocardial cells from four-day embryonic chick hearts grown in culture. In: Acta Anat. 58 (1964) S. 116 - 130.
- Rumjantzew, A.: Beobachtungen über die Entwicklung des Herzmuskelgewebes bei Embryonen von Hühnern in vitro. In: Arch. Exp. Zellforsch. 4 (1927) S. 328 - 336.
- Schlater, G.: Histologische Untersuchungen über Muskelgewebe. 2: Die Myofibrille des embryonalen Hühnerherzens. In: Arch. Mikrosk. Anat. 69 (1925) S. 100 - 116.

- Schüssler, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchung der Muskelentwicklung in der hinteren Extremität von Hühnerembryonen. Berlin, F. U., Med. Diss. v. 26. Aug. 1971.
- Sheridan, J. D.: Electrophysiological Study of special connections between cells in the early chick embryo. In: J. Cell. Biol. 31 (1966) C1.
- Sheridan, J. D.: Electrophysiological Evidence for low-resistance intercellular junctions in the early chick embryo. In: J. Cell. Biol. 37 (1967) S. 650 - 659.
- Sjöstrand, F. S., E. Andersson-Cedérgren, M. M. Dewey: The Ultrastructure of the intercalated discs of frog, mouse, and guinea pig cardiac muscle. In: J. Ultrastr. Res. 1 (1958) S. 271 - 287.
- Staley, N. A., E. S. Benson: The Ultrastructure of frog ventricular cardiac muscle and its relationship to mechanisms of excitation-contraction coupling. In: J. Cell. Biol. 38 (1968) S. 99 - 114.
- Trelstad, R. L., J. P. Revel, E. D. Hay: Tight junctions between cells in the early chick embryo as visualized with the electron microscope. In: J. Cell. Biol. 31 (1966) C6.
- Trelstad, R. L.: Vacuoles in the embryonic chick corneal epithelium, an epithelium which produces collagen. In: J. Cell. Biol. 48 (1971) S. 689 - 694.
- Vollrath, L.: Bau und Funktion von Basalmembranen. In: DMW 93 (1968) S. 360 - 365.
- Wechsler, W.: Die Entwicklung der Gefäße und perivaskulären Gewebsräume im ZNS von Hühnern. In: Zs Anat. Entw. gesch. 124 (1965) S. 367 - 395.
- Weinstein, R. S., N. S. McNutt: The Ultrastructure of the nexus. In: J. Cell. Biol. 47 (1970) S. 666 - 688.

- Wolff, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entstehung von Fibrozytenfortsätzen durch Vesikulation. In: Verhandl. Anat. Ges. 112 (1963) Erg. Bd S. 341 - 358.
- Wolff, J.: Die Ultrastruktur des normalen Skelettmuskels und ihre Beziehung zur Funktion. In: Verhandl. Dt. Orthop. Ges. 54 (1967) S. 17 - 27
- Zechel, G.: Über Muskelknospen beim Menschen, ein Beitrag zur Lehre von der Differenzierung des Myotoms. In: Z. Anat. Entw. gesch. 74 (1924) S. 593 - 607.

Abb. 1: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 48 Std.
Coelomepithel im Bereich der Herzanlage
(myoepicardialer Mantel), teilweise noch
einschichtig (↓), in den übrigen Bereichen
beginnende Mehrschichtigkeit.

G = Glycogen

L = Lipideinschluß

N = Zellkern

C = Coelomhöhle

M = Mesenchym

Vergrößerung: 1:7000

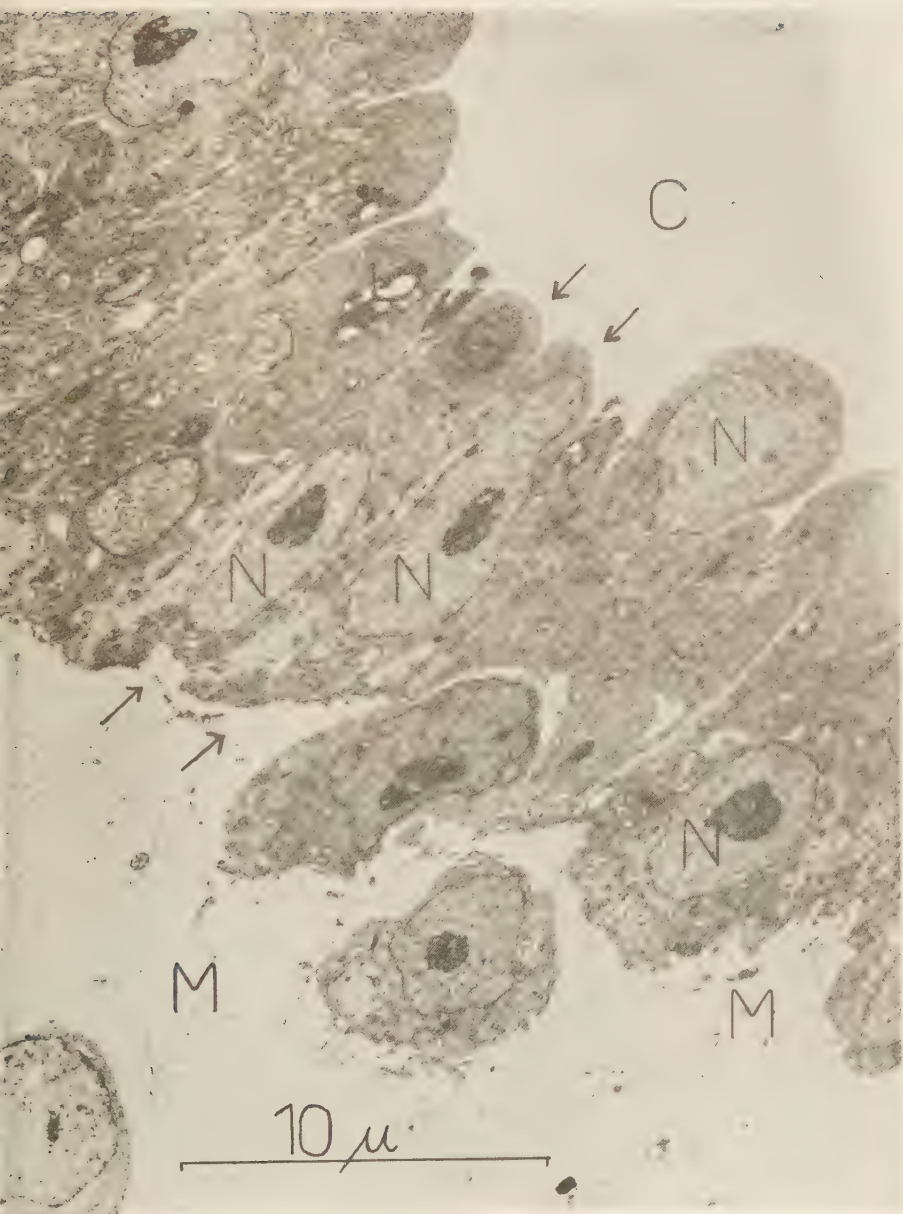


Abb. 2: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 61 Std,
mehrschichtige Herzmuskelanlage.

C = Coelomhöhle

M = Mesenchym

N = Zellkern

I = Interzellularraum

Vergrößerung: 1:7000

10 μ

C

N

N

N

N

N

I

I

I

M

I

M



Abb. 3: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 48 Std.
Herzmuskelanlage, Epithel-Mesenchym-
grenze mit lockerer Basalmembran (↓).
Erstes Auftreten von Myofilamenten im
Querschnitt.

MF = Myofilamente

M = Mitochondrien

N = Zellkern

I = Interzellularraum

Vergrößerung: 1:35 000

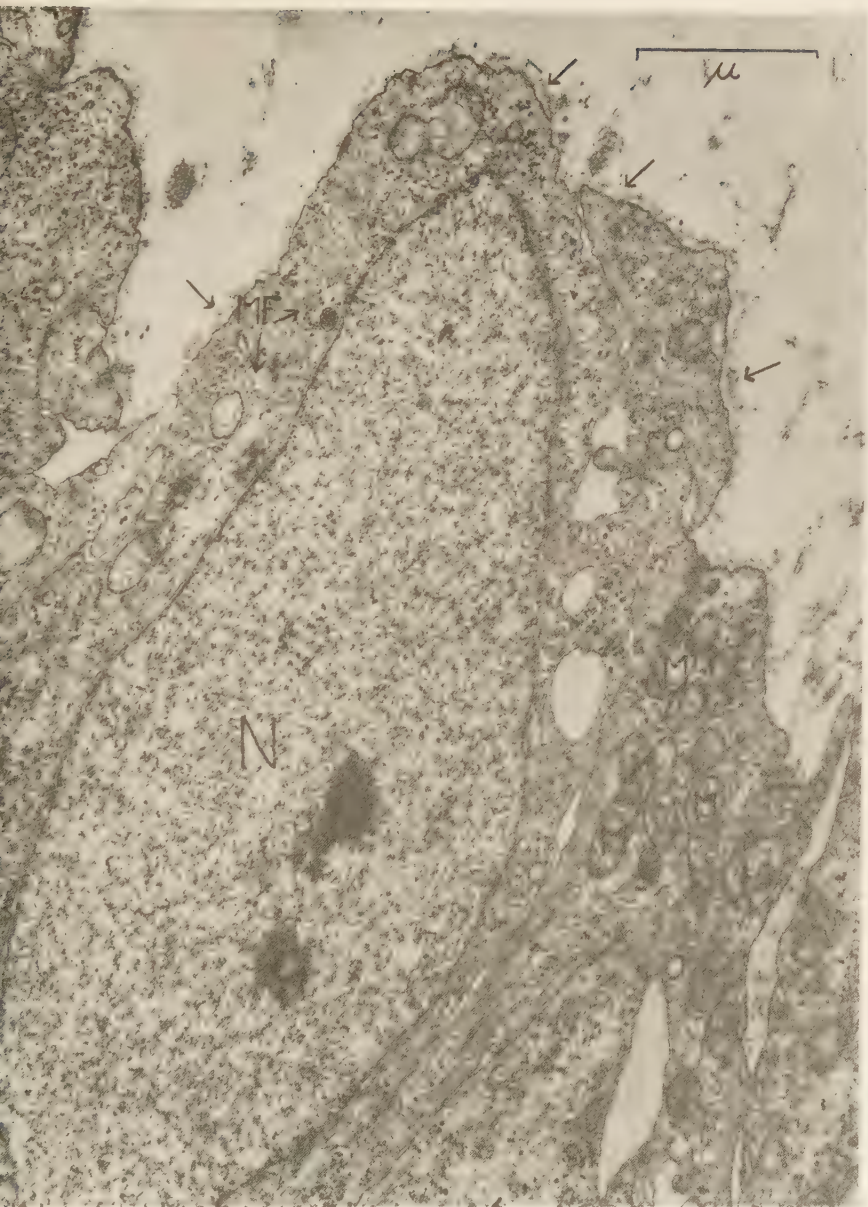


Abb. 4: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 48 Std.
Zelle der Herzmuskelanlage mit helix-
artig geordneten Ribosomen.

R = Ribosomen

M = Mitochondrien

GA = Golgi - Apparat

ER = Hohlräume des rauhen endoplasma-
tischen Retikulums

MF = erste Myofilamente im Längsschnitt
(MF) und im Schrägschnitt (↓)

C = Coelomhöhle

Vergrößerung: 1:42000

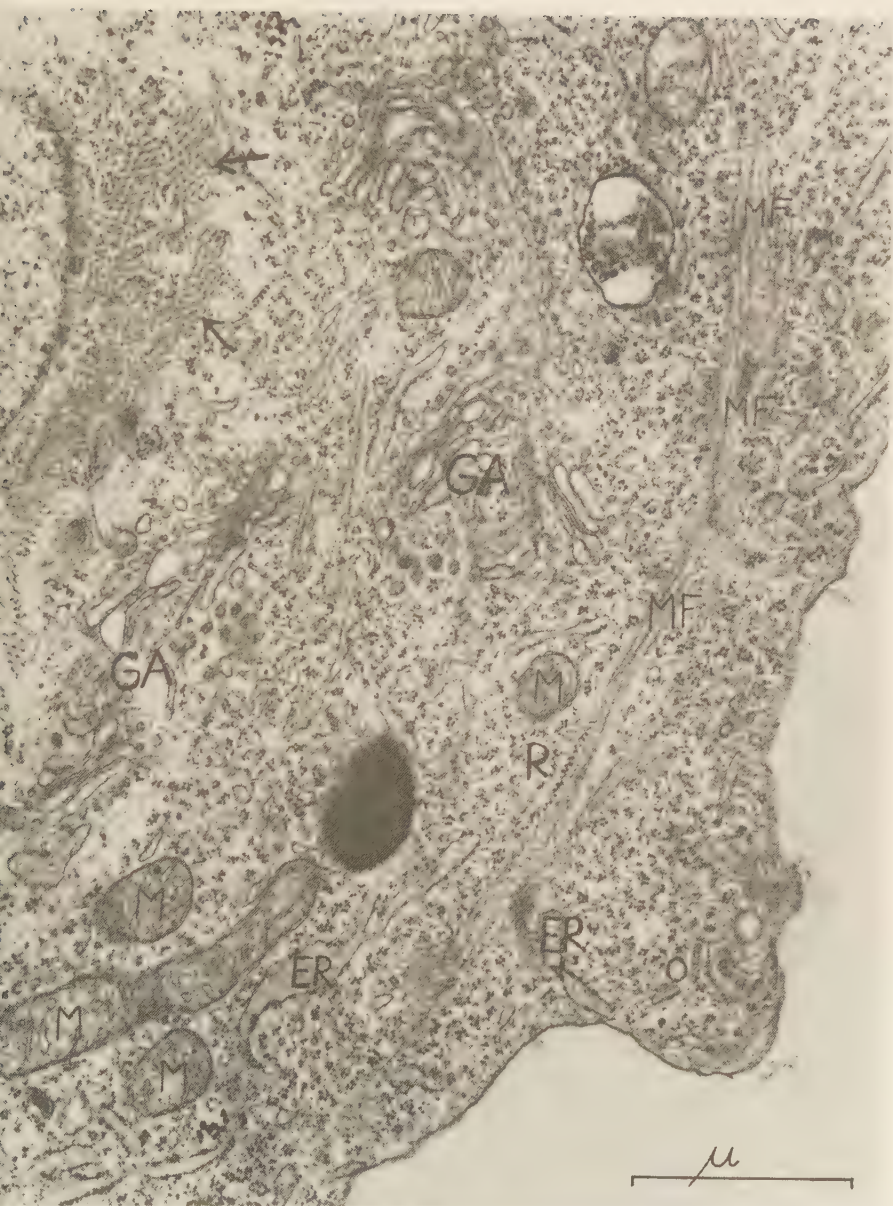


Abb. 5: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 61 Std.
Herzmuskelanlage mit Desmosomen und
tight junctions.

D = Desmosomen

tj = tight junctions

MF = längs- (MF) und quergeschnittene(↓),
bereits geordnete dicke und dünne
Myofilamente

G = Glykogengranula

R = freie Ribosomen

ER = rauhes endoplasmatisches Retikulum

I = Interzellularraum

C = Coelomhöhle

Vergrößerung: 1:74000



Abb. 6: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 61 Std.

Herzmuskelanlage

L = Lipideinschluß

G = Glykogengranula

GA = Golgi - Apparat

D = Desmosomen

tj = tight junctions

(↓) = quergeschnittene Myofilamente

I = Interzellularraum

M = Mitochondrien

Vergrößerung: 1:49000



Abb. 7: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 61 Std.

Herzmuskelanlage

D = Desmosomen

tj = schräggesechnittene tight junctions

(↓) = schräggesechnittene Myofilamente

ER = rauhes endoplasmatisches Retikulum

M = Mitochondrien

R = Ribosomen

G = Glykogengranula

Vergrößerung: 1:96000



Abb. 8: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 48 Std.
Mesenchymnaher Anteil der Herzmuskel-
anlage mit geordneten und ungeordneten
Myofilamenten.

MF = geordnete (MF) und ungeordnete (↓)
Myofilamente

BM = Basalmembran (angedeutet)

ME = Mesenchym

R = freie Ribosomen

Z = Z - Streifen

D = Desmosomen

tj = tight junctions

M = Mitochondrien

Vergrößerung: 1:73500



Abb. 9: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 48 Std.
Herzmuskelanlage. Myofilamente sind
bereits in Sarkomerenform geordnet.
Deutlich sichtbare Z - Streifen. Ein -
strahlen der Myofilamente in Desmosomen
an der Zellmembran(↓).

MF = Myofilamente

Z = Z - Streifen

D = Desmosomen

tj = tight junctions

M = zahlreiche große Mitochondrien

G = Glykogengranula

N = Zellkern

I = Interzellularraum

ME = Mesenchym

Vergrößerung: 1:35000

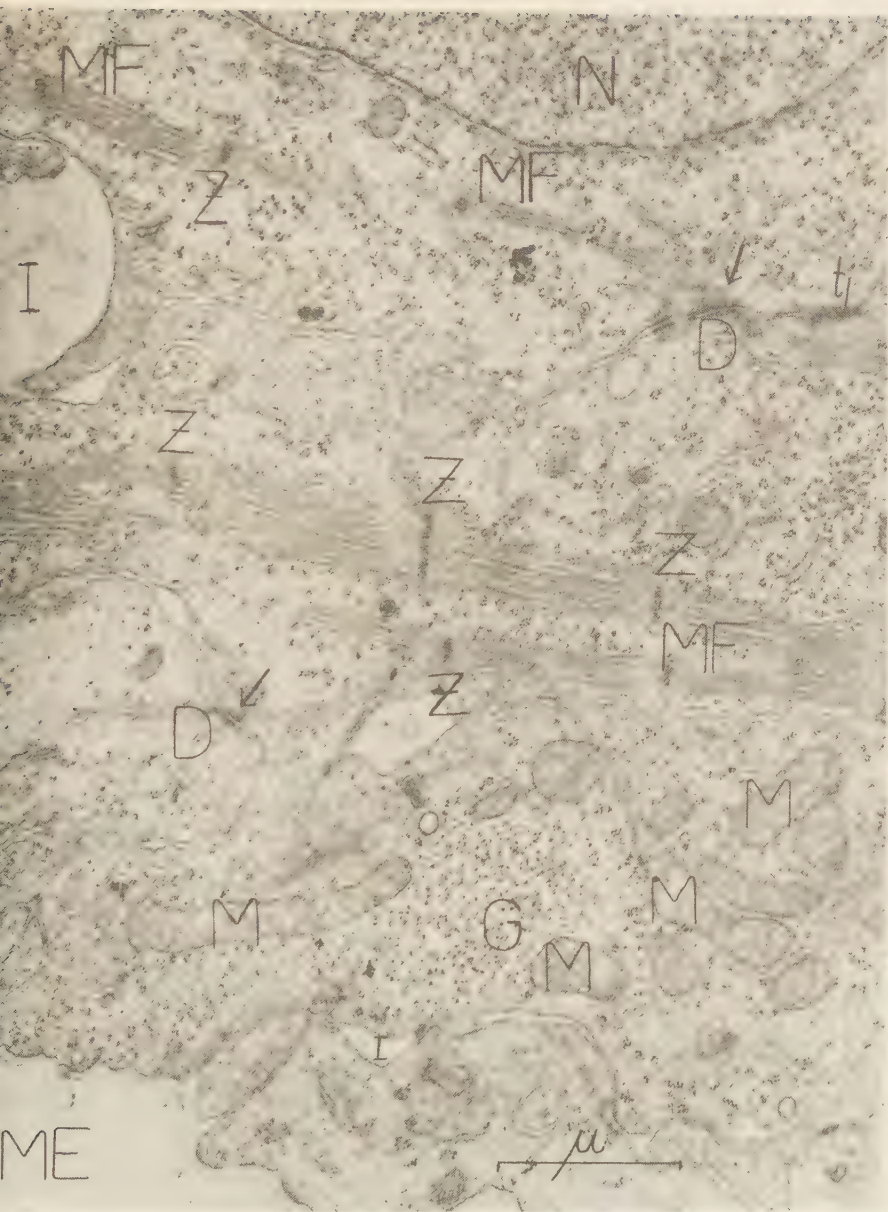


Abb. 10: Hühnerembryo, Bebrütungsdauer 61 Std.
Coelomepithel im Bereich der Viscero-
pleura. Unregelmäßige Oberfläche zur
Coelomhöhle hin, fehlende Abgrenzung
der langgestreckten Zellen zum Mesen-
chym.

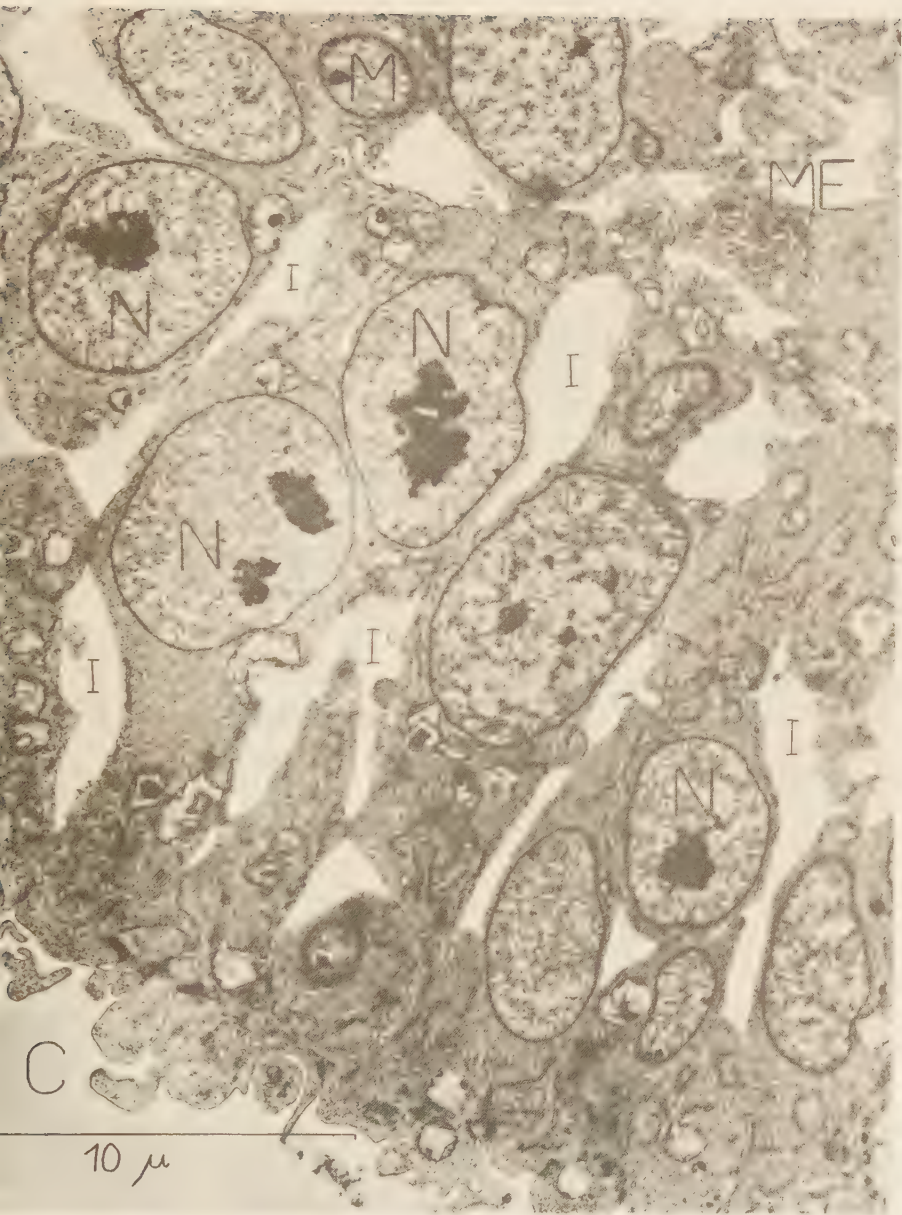
C = Coelomhöhle

N = Nukleus mit großem Nukleolus

I = Interzellularraum

ME = Mesenchym

Vergrößerung: 1:7000



Herrn Prof. Dr. med. H. J. Merker danke ich für die
Überlassung des Themas:

"Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die
sehr frühe Entwicklung des Herzmuskels beim
Hühnerembryo"

Den Mitarbeitern des II. Anatomischen Instituts der
Freien Universität Berlin danke ich für ihre freund-
liche Unterstützung.

Lebenslauf

Am 10. Nov. 1942 wurde ich als Sohn des Diakons Hermann Korporal und seiner Ehefrau Berta, geb. Dacke, in Gadderbaum bei Bielefeld geboren. Nach siebenjähriger Grundschulzeit besuchte ich die Friedrich-von-Bodelschwingh-Schule in Bethel bei Bielefeld, an der ich 1962 die Reifeprüfung ablegte.

Nach Abschluß einer zweijährigen Dienstzeit bei der Bundeswehr begann ich im SS 1964 das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin. Hier bestand ich im SS 1970 das medizinische Staatsexamen.

Vom 1.10.1970 bis zum 31.12.1971 war ich als Medizinalassistent an Berliner Krankenhäusern tätig.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin
- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31

